(19) **日本国特許庁(JP)**

(12) 公 開 特 許 公 報(A)

(11)特許出願公開番号

特開2006-3144 (P2006-3144A)

(43) 公開日 平成18年1月5日(2006.1.5)

(51) Int.C1.			FI			テーマコード (参考)
GO 1 N	<i>5/02</i>	(2006.01)	GO1N	5/02	A	
GO 1 N	<i>37/00</i>	(2006.01)	GO1N	37/00	1 O 1	
HO1L	41/08	(2006.01)	HO1L	41/08	\mathbf{Z}	
HO1L	41/18	(2006.01)	HO1L	41/18	1 O 1 A	

		審查請求	未請求	請求項の数 7	OL	(全 10	頁)
(21) 出願番号 (22) 出願日	特願2004-177975 (P2004-177975) 平成16年6月16日 (2004.6.16)	(71) 出願人	000002325 セイコーインスツル株式会社 千葉県千葉市美浜区中瀬1丁目8番地				
		(74)代理人 	1000792 弁理士				
	(72) 発明者	篠原		₩ ₽ 4 F			
			千葉県千葉市美浜区中瀬1丁目8番地 セ イコーインスツルメンツ株式会社内				セ
		(72) 発明者	新荻口			To well	
				千葉市美浜区中 インスツルメン			乜
		(72) 発明者	山本			· · · ·	_
				千葉市美浜区中 インスツルメン			也

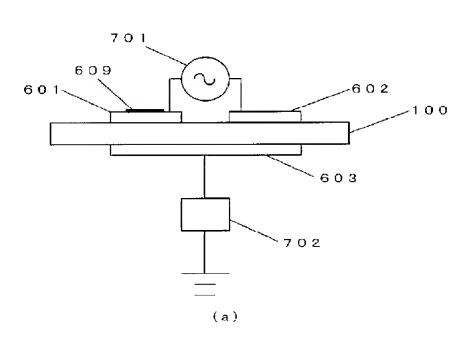
(54) 【発明の名称】分析用マイクロセンサ

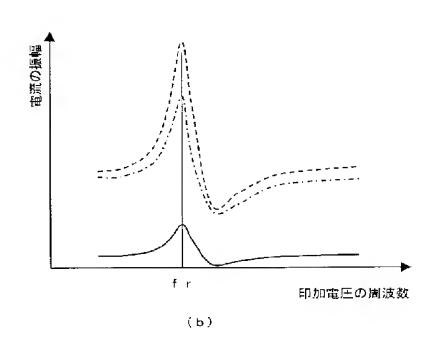
(57)【要約】 (修正有)

【課題】流体の温度や粘度、密度等による変化をリアルタイムで補正すると同時に、基準振動子と検出用振動子とを近接配置しても高精度の測定が可能な分析用マイクロセンサを提供する。

【解決手段】本発明の分析用マイクロセンサは、圧電材料基板が流路の一側面を構成すると同時に、該表面の流路内に検出電極と基準電極を設置し、これら電極と対向して共通電極を設置し、検出電極には特定物質の捕獲手段を設け、共通電極と接地との間に電流計を、検出電極と一方の電極かつ基準電極と他方の電極を接続した交流電源を設置する。検出一共通電極間の共振周波数変化と基準一共通電極間の共振周波数変化の差分を電流計が測定することで、自動的に試料の粘度や温度が補正された測定が可能となり、検出電極と基準電極の電気一機械結合を、検出一共通電極間及び基準一共通電極間の結合より小さくして、検出電極と基準電極の近接配置による測定への影響を排除できる。







【特許請求の範囲】

【請求項1】

圧電材料基板が少なくとも一側面を構成する流路内を流れる試料に含有する特定物質を 測定する分析用マイクロセンサにおいて、

前記流路内の前記圧電材料基板に設けられた検出電極と、

前記検出電極に設けられた特定物質指獲手段と、

前記流路内かつ前記検出電極に隣接して設けられた基準電極と、

前記検出電極および前記基準電極に対向して設けられた共通電極と、

前記共通電極と接地との間に接続された電流計と、

前記検出電極と前記基準電極に対して位相反転した信号を印加する電源と、からなるこ とを特徴とする分析用マイクロセンサ。

【請求項2】

前記検出電極と前記基準電極との距離が、前記検出電極もしくは前記基準電極が設けら れた領域での前記圧電材料基板の厚さの二倍以上であることを特徴とする請求項1に記載 の分析用マイクロセンサ。

【請求項3】

前記検出電極と前記共通電極間に交流電圧を印加した場合、前記検出電極と前記共通電 極間に挟まれた前記圧電材料基板が前記試料の流れる方向に対して略直交方向に振動する ことを特徴とする請求項1ないし2に記載の分析用マイクロセンサ。

【請求項4】

前記検出電極と前記基準電極とが、前記試料の流れる方向に並んで配置されたことを特 徴とする請求項1から3いずれかに記載の分析用マイクロセンサ。

【請求項5】

前記特定物質捕獲手段が自己組織化膜および前記自己組織化膜に固定された抗体である ことを特徴とする請求項1から4のいずれかに記載の分析用マイクロセンサ。

【請求項6】

前記基準電極を絶縁材料で覆うことを特徴とする請求項1から5のいずれかに記載の分 析用マイクロセンサ。

【請求項7】

前記圧電材料基板上に設けられた前記検出電極、前記基準電極、前記共通電極と前記流 路の組が複数あることを特徴とする請求項1から6のいずれかに記載の分析用マイクロセ ンサ。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

[00001]

本発明は、QCM(Quartz Crystal Microbalance)を利 用した分析用マイクロセンサに関し、詳しくは、分析対象液体の温度、密度、圧力等の変 動による測定精度低下を補正しつつ、液体に含有する特定物質の質量を高精度に検出およ び測定する分析用マイクロセンサに属する。

【背景技術】

[00002]

近年、Lab-on-a-Chipと呼ばれる小型分析システムの開発が盛んに行われ ている。これは、流路や反応漕、バルブ、センサ等の要素構造を小さな基板に集積した構 成であり、この内部に流れる気体や液体に対して分析処理を行うものである。このような 小型分析システムを用いると、少量の試料で高速に分析を行うことができ、試料を提供す る側の負担を少なくすることができることから、特に生体への応用が注目を集めている。

[00003]

この小型分析システムの構成要素の一つであるセンサ部には、様々な原理を利用したセ ンサが提案されている。中でもシステムが搭載する基板と一体化かつ小型の構成が可能な QCM (Quartz Crystal Microbalance)の利用が期待され 20

10

30

40

50

20

30

40

50

ている。

[0004]

QCMは圧電振動子(特に水晶振動子)の共振現象を利用して、振動子に付着した微少な質量を測定する技術である。詳細に説明すると、圧電振動子の両面に形成した電極に交流電圧を印加すると、圧電振動子の材料特性および形状から決定される特定の周波数で共振する。そこで、圧電振動子の電極に物質が付着すると、付着した質量に応じて振動子全体の共振周波数が変化する。この共振周波数の変化を検出することで、電極に付着した物質の質量を測定するという技術である。

[00005]

しかし、このような質量計測手段では、特定の物質の検出はできないため、特定の物質のみを吸着もしくは捕獲する手段を電極上に固定し、特定の物質のみを検出する構成が用いられている。一例を挙げると、蛋白質の検出に抗原抗体反応を用いる技術が知られている(特許文献 1 参照。)。このような構成のQCMを利用すると、ある特定の測定対象物質の微小な質量を測定することが可能となる。そのため、小型分析システムのセンサ部にQCMを利用すると、測定したい物質の質量を高精度に測定することが出来るとともに、前述したように、分析システムと一体化した構成が可能であり、しかも小型な構成を維持できる。

[00006]

ところが、QCMは高感度の検出が可能である反面、圧電振動子と接している流体の温度や粘度、密度等の変化によっても共振周波数が変動してしまうという問題があった。そこで、検出に用いる圧電振動子に隣接して、検出対象の物質を付着する手段を設けない圧電振動子を設置し、この付着手段のない圧電振動子の共振周波数を利用して、付着した質量による共振周波数の変化分のみを取り出すという補償方法が用いられてきた(非特許文献1参照。)。

[00007]

ところが、Lab-on-a-Chipのような小型分析システムは、基板上に形成された微小流路内で少量の試料を分析するため、分析に利用する化学反応(例えば電極に設けた吸着もしくは捕獲手段と測定対象物質との結合)が急速かつ局所的に発生する。そのため、局所的な測定とリアルタイムの補償が必要となる。これを上記のQCM補償方法で実現するには、基準振動子と検出用振動子を近接して配置し、かつ、基準振動子と検出用振動子を同時に振動させて測定と補償を同時にする必要があった。

【特許文献1】特開2000-338022号公報

【非特許文献1】 J. Auge et al., Sensors and Actuators B, 26-27(1995) 181-186

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

[00008]

しかしながら、上記構造のQCMで測定および補償を同時に行うと、基準振動子と検出用振動子間で電気一機械的な結合が起こり、意図しない振動によるノイズが発生し、測定精度低下を招くという問題があった。また、この結合を防止するため、基準振動子と検出用振動子とを離して設置すると、局所的な測定および補償ができず、試料の濃度勾配等により測定精度が低下するという問題があった。

[0009]

そこで、本発明は、振動子に接する流体の温度や粘度、密度等による変化をリアルタイムで補正すると同時に、基準振動子と検出用振動子との近接配置をしても高精度の測定が可能な分析用マイクロセンサを提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

[0010]

本発明は、上記課題を達成するために分析用マイクロセンサを次のような構成にしたことを特徴としている。すなわち、圧電材料基板が少なくとも一側面を構成する流路内を流

20

30

40

50

れる試料に含有する特定物質を測定する分析用マイクロセンサにおいて、前記流路内の前記圧電材料基板に設けられた検出電極と、前記検出電極に設けられた特定物質捕獲手段と、前記流路内かつ前記検出電極に隣接して設けられた基準電極と、前記検出電極および前記基準電極に対向して設けられた共通電極と、前記共通電極と接地との間に接続された電流計と、前記検出電極と前記基準電極に対して位相反転した信号を印加する電源とから構成されたことを特徴とする。

[0011]

また、検出電極と基準電極との距離が、検出電極もしくは基準電極が設けられた領域での圧電材料基板の厚さの二倍以上であることを特徴とする。また、検出電極と共通電極間に交流電圧を印加した場合、検出電極と共通電極間に挟まれた圧電材料基板が試料の流れる方向に対して略直交方向に振動することを特徴とする。また、検出電極と基準電極とが、試料の流れる方向に並んで配置されたことを特徴とする。また、特定物質捕獲手段が自己組織化膜および自己組織化膜に固定された抗体であることを特徴とする。また、基準電極を絶縁材料で覆うことを特徴とする。また、圧電材料基板上に設けられた検出電極、基準電極、共通電極と流路の組が複数あることを特徴とする。

【発明の効果】

[0012]

本発明の分析用マイクロセンサによると、簡略な電気構成でありながら、振動子に接する流体の温度や粘度、密度等による変化をリアルタイムで補正すると同時に、基準振動子と検出用振動子との近接配置しても高精度の測定が可能となる。

【発明を実施するための最良の形態】

[0013]

以下、本発明について図面を参照しつつ詳細に説明する。なお、以下の実施の形態により本発明が限定されるものではない。

(実施の形態1)

図1は、本発明の分析用マイクロセンサ1000の構成を説明する図である。図2は分析用マイクロセンサ1000に接続する電気系統を説明する図である。

[0014]

分析用マイクロセンサ1000は、水晶基板100と流路基板200を一体に接合もしくは接着して構成している。まず、水品基板100について述べる。水品基板100には、厚さを薄くするための凹部101を形成している。凹部101内に共通電極603が設けられ、その対向した面には、検出電極601および基準電極602が接地電極603と対向して設けられている。さらに、検出電極601の表面には、特定物質のみを吸着する吸着膜609が設けられている。なお、検出電極601と基準電極602とは、凹部101での水品基板100の厚さの2倍以上離して設置されている。次に、流路基板200には、溝、溝まで貫通した穴を有する液導入口202と液排出口203およびバルブ204が設けられている。また、溝の一部は幅を広げた構造となっている。

[0015]

これら水品基板100と流路基板200とが一体化し、分析用マイクロセンサ1000となる。詳しくは、検出電極601および基準電極602が設けられた水品基板100表面と溝が設けられた流路基板200表面を接合もしくは接着して一体化すると、溝と水晶基板100の表面との間に流路400が形成され、さらに、溝の幅を広げた領域が反応槽500となり、反応槽500内に検出電極601および基準電極602が設けられることになる。そのため、液導入口202から液体を流入すると、流路400、反応槽500を経て、液排出口203に至る流れが発生し、試料中に含有する特定物質を測定する検出電極601および吸着膜609表面が試料に浸されることになる。

[0016]

つぎに、水晶基板100に設けられた検出電極601、基準電極602および共通電極603に接続された電気系および電気信号から検出電極601に付着する物質の質量の測定する手法について説明する。ここで述べる分析用マイクロセンサ1000では、水晶基

20

30

40

50

板100にATカット水品板を用いている。ATカット水品板は、周期的に厚さ方面に電位差を設けると、厚みすべり振動が発生する性質を持っている。

[0017]

まず、図2(a)に各電極に接続された電気構成を示す。周波数可変の交流電源701の一方の電極を検出電極601に、他方の電極を基準電極602に接続する。そして、共通電極603と接地の間に電流計702を接続する。ここで、交流電源701から検出電極601および基準電極602に交流電圧を印加すると、印加電圧の周波数に応じて電流計702に流れる電流が変化する。印加電圧の周波数と電流の振幅値の関係を図2(b)中の実線で示す。電流計702に流れる電流は、図中の周波数frで最大となる。ここで、詳細に説明するために、各電極を検出電極601と共通電極603の組、基準電極602と共通電極603の組に信号を印加して考える。図2(a)で示した電気構成は、検出電極601と共通電極603の組に信号を印加した信号を180度位相反転した信号を印加していることと同じである。そのため、電流計702に流れる電流は、検出電極601と共通電極603の組に流れる電流(図2(b)に破線で示す。)と、基準電極602と共通電極603の組に流れる電流(図2(b)に破線で示す。)の差分ということになる。

[0018]

ここで、検出電極 6 0 1 に測定対象物質が付着した場合について説明する。このときの印加電圧の周波数と電流値の関係を図3に示す。物質付着により、検出電極 6 0 1 と共通電極 6 0 3 の組の電流特性のみが、周波数 Δ m だけ低い方向へ移動し、電流が最も流れる周波数 f r が周波数 f r)に変化する。そのため、電流計 7 0 2 に流れる電流は図中実線で示すように変化する。付着物質の質量測定に必要な周波数変化 Δ m = 周波数 f r 一周波数 f r)であるため、電流が極大値を取る周波数を低い方から 2 つ測定して差分を求めるだけで測定できる。

[0019]

また、試料の粘度、密度、もしくは温度等が変化した場合の、印加電圧の周波数と電流値の関係を図4に示す。試料の粘度等の特性変化に起因して、周波数がΔνだけ変化し、周波数 f r が周波数 f r v へと変化する。この時、検出電極601に物質が付着すると、電流が最大値を取る周波数 f r v 。当初の周波数 f r + 試料の特性変化に起因する周波数変化Δν+物質付着に起因する周波数変化Δmで表される。ここで、試料の特性変化に起因する周波数変化Δσに起因する周波数変化Δmで表される。ここで、試料の特性変化に起因する周波数変化Δνについては、検出電極601と共通電極603の組、基準電極602と共通電極603の組両方のΔνは等しい。そのため、付着物質の質量測定に必要な周波数変化Δfv=周波数frv,となり、自動的に補正された形で検出することが可能となる。

[0020]

以上により、試料の粘度、密度、もしくは温度等が変化しても、電流計702に流れる電流が極大になる印加電圧の周波数2点を測定することで、検出電極601に付着した物質の質量を高精度に測定することが可能となる。

[0021]

ところで、前述の付着物質の質量を測定する手法によれば、検出電極601と共通電極603の組、基準電極602と共通電極603の組が独立して励振する必要がある。もし、検出電極601と基準電極602の組で電気ー機械的な結合が大きい場合、これらの電極間で測定に不要な振動が発生する。そして、不要振動の共振周波数を測定に必要な周波数 f r や f r 'と誤認して、測定精度が低下するおそれがある。本発明の分析用マイクロセンサ1000では、検出電極601と基準電極602の距離を、これらの電極が設けられた部分の水晶基板の厚さの2倍以上離して設置している。これは、以下の理由によるものである。各電極間の電気ー機械的な結合は、(電極間の電位差)/(電極間の距離)に比例する。本発明の構成では、検出電極601と基準電極602間の電位差は、検出電極601と共通電極603間の電位差の2倍であ

20

30

40

50

る。

[0022]

そのため、検出電極601と基準電極602間の電気-機械的な結合を、他の電極間に対して小さくするため、検出電極601と基準電極602との距離を水晶基板の厚さのの倍以上に設定している。このため、検出電極601と基準電極602間での不要振動を防止し、高精度な質量測定を維持することが可能である。さらに、検出電極601と基準電極601と基準電極601と基準電極601と基準電極601と基準電極602間での電気-機械的な結合が小さい構成となっている。また、検出電極601と基準電極602間での電気-機械的な結合を小さいできる。次に、本発明の分析用マイクロセンサ1000の製造方法について述べる。まず、ATカット水晶ウェハをエッチングし、凹部101を形成した後、ウェハ両面を金で蒸着ものの記えパッチして、検出電極601、基準電極602、共通電極603および各電極への記線を作成する。次に、シリコンウェハの一方の面をエッチングし、溝を形成した後、水品基板とシリコンウェハを重ねあわせてから紫外線を照射し、接着する。

[0023]

このとき、基準電極602にも接着剤を塗布し、基準電極602表面が接着材(絶縁材)で覆われるようにする。接着したウェハをダイシングで切断した後、両端の貫通穴に底が抜けたカップ形状の液導入口202と液排出口203を接続し、残りの貫通穴にはシリコン樹脂をはめ込み、このシリコン樹脂を抜き差しすることでバルブ204としている。

[0024]

なお、ここでは、製造過程の一例を挙げたが、溝を形成した基板材質はシリコンに限らない。ガラス等の無機材質や、ポリイミドやポリジメチルシロキサン(PDMA)等の樹脂材料も利用可能である。さらに、水晶ウェハと溝を形成した基板とを一体化するのに、接合しても構成可能である。例えば、水晶ウェハの接合する部分にアルミ薄膜を形成し、溝を形成したガラス基板と陽極接合してもよい。

[0025]

次に、検出電極601上に設置する吸着膜609の形成方法について述べる。ここでは、一例として、自己組織化膜(Se1f-assembled monolayer、以下SAM)に抗体を固定した吸着膜609の作成方法を示す。まず流路400内を洗浄するために純水を流した後、SAM試薬(カルボキシル基末端ジスルフィド型)を流し、検出電極601上にSAMを形成し、リン酸バッファで洗浄する。次に、ヒドロキシこはく酸イミドを流し、SAMを活性化し、再びリン酸バッファで洗浄する。その後、リン酸バッファに固定化する抗体を混合して流し、SAMに抗体を固定化する。ここでは、2枚の基板を接着もしくは接合した後、吸着膜609を形成する方法を述べたが、水晶ウェハの段階で吸着膜609を形成した後、接着もしくは接合工程を行っても製造可能である。分析用マイクロセンサ1000内を流れる試料に対して、特定の物質のみを検出する過程について述べる。ここでは、一例として生体高分子、特に蛋白質の検出について述べる。

[0026]

分析用マイクロセンサ1000の液導入口202に試料を流入する。試料は液導入口202から流路400を経て、反応槽500に到達する。反応槽500が試料で満たされると、検出電極601表面に設けられた吸着膜609が試料で浸される。このとき、吸着膜609の抗体が、試料に含有する特定の抗原を捕獲固定し、検出電極601に付着する質量が増加するため、検出電極側の共振周波数が変化する。この変化を共通電極603に接続された電流計702が測定し、吸着膜609に固定された物質の質量を測定することができる。この時の周波数変化の測定については、まず、検出電極601に質量が付着していない状態で、電源701の印加信号の周波数を徐々に変化させ、この状態での共振周波数を測定しておく。

20

30

40

50

[0027]

次に、印加信号の周波数を共振周波数近傍に限定して、印加信号の周波数を徐々に変化させることを繰り返し、繰り返す毎に電流計702での電流値が極大になる周波数を求める。また、電源701の印加信号をホワイトノイズとし、電流計702が測定する電流値をFFTで周波数成分に分解し、共振周波数の変化を求めることも可能である。また、印加信号の周波数と電流計での電流値との関係が明確になっていれば、数点での印加電圧の周波数と電流値を測定して、カーブフィット等により、共振周波数の推定も可能である。以上により、非常に微少な物質の重量を高精度に検知するセンサーでありながら、温度等の環境による圧電材料の共振周波数の変動を補正すると同時に、電気回路構成の単純化が可能となる。

[0028]

(実施の形態2)

図5は、本発明の分析用マイクロセンサ2000を示したものである。なお、実施の形態1との相違点のみを以下に示す。

[0029]

水品基板120には、溝、溝の幅を広くした部分の内部に検出電極621および基準電極622、これら電極に対向して共通電極623が設けられている。なお、検出電極62 1は基準電極622より 二割程度、面積を大きくして設置している。流路基板220には液導入口222A、Bと液排出口223A、Bおよびバルブ224A、B、C、Dが設けられている。この水品基板120と流路基板220を一体化すると、流路420および反応漕520が形成される。

[0030]

まず、検出電極621と基準電極622の構成について説明する。このような構成をとった場合、検出電極621と共通電極623間、基準電極622と共通電極623間での共振周波数frは変化しない。なぜならば、共振周波数frは水晶の形状で決定されるからであり、一例を挙げると、ATカット水晶を用いた場合は、水晶の厚さで共振周波数frが決定される。電極面積は流れる電流値と比例して変化するため、検出電極621と基準電極622で電極面積を変化させることで、2つの電極の組に流れる電流の差分をとるにあたり、ある電流の極大値がどちらの電極の組の共振によるものなのか、明確に区分することが可能になる。

[0031]

次に、分析用マイクロセンサ2000の送液構造について説明する。このように液導入口222A、Bと液排出口223A、Bを各2つ、バルブ224A、B、C、Dを4つ設けた構造であるため、各々のバルブの開閉を制御することで、特定の液導入口から特定の液排出口へ試料を導くことが可能となる。例えば、液導入口222Aから液排出口223Bへ試料を導く場合、バルブ224Aおよび224Dを開き、バルブ224Bおよび224Cを閉めるバルブ制御を行う。さらに液導入口毎に異種の試料を同時に導入し、試料の種類毎個別に、また試料を混合して反応漕520に導くことも可能である。

[0032]

なお、分析用マイクロセンサ2000では、水品基板120と流路基板220を一体化する構成であったが、図6に示す分析用マイクロセンサ2001のように、水晶板121と一体化させた基板122に流路基板221を接着もしくは接合させた構成も可能である。このような構成によると、製造や実装工程が増えるものの、脆性材料である水晶板の面積を小さくできるため、製造や実装工程のハンドリングを容易にでき、工程中の破損を回避できる。また、検出電極621、基準電極622および共通電極623各々の配線を基板122へと引き回すことができるため、配線や電極配置等の設計自由度をあげることも可能である。

【図面の簡単な説明】

- [0033]
- 【図1】本発明の分析用マイクロセンサ10000構成を示す図である。

20

【図2】本発明の分析用マイクロセンサ1000電気系構成および電気特性を説明する図である。

【図3】 本発明の分析用マイクロセンサ1000で物質質量を測定する場合の電気特性を説明する図である。

【図4】本発明の分析用マイクロセンサ1000が試料粘度等による変動を補正する場合の電気特性を説明する図である。

【図5】本発明の分析用マイクロセンサ200の構成を示す図である。

【図6】本発明の分析用マイクロセンサ2001の構成を示す図である。

【符号の説明】

[0034]

10001211000121001 分析用マイクロセンサ

100、120、121 水晶基板

1 0 1 凹部

200、220 流路基板

2 0 1 溝

202、222 液導入口

203、223 液排出口

204、224 バルブ

4 0 0 流路

500 反応槽

601、621 検出電極

602、622 基準電極

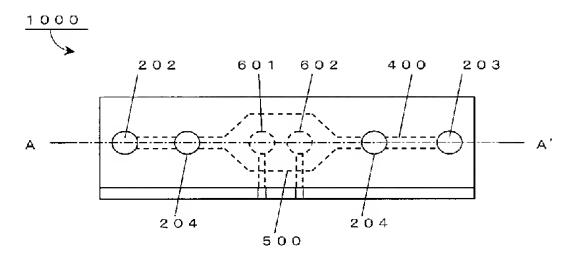
603、623 共通電極

6 0 9 吸着膜

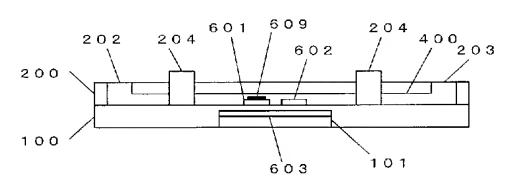
7 0 1 交流電源

7 0 2 電流計

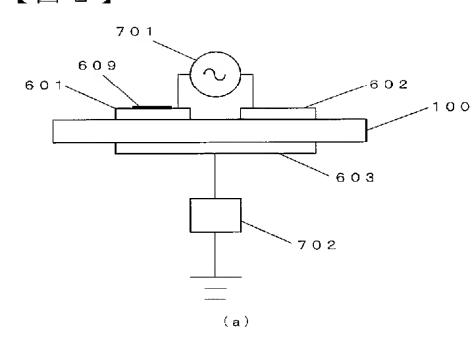
【図1】

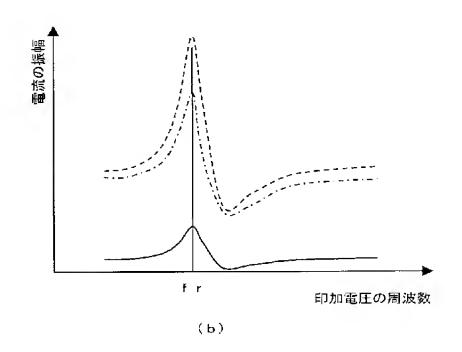


A—A'断面

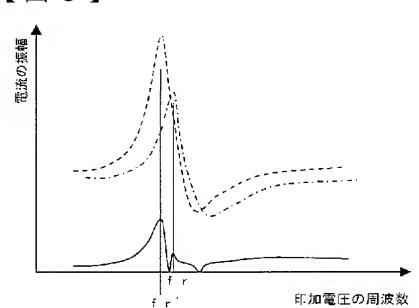


【図2】

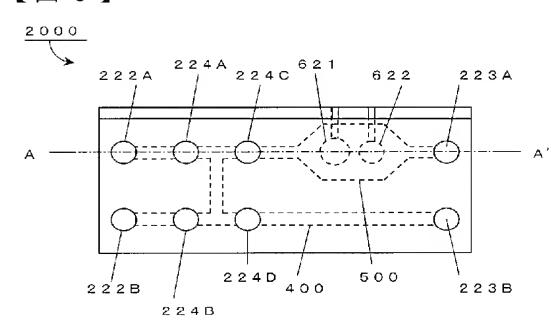




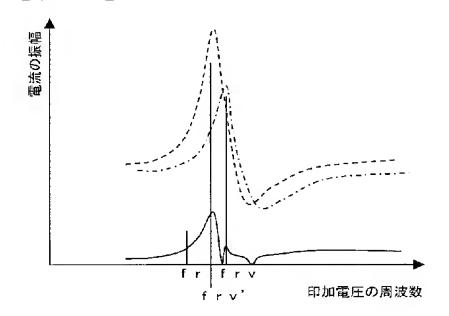
[図3]



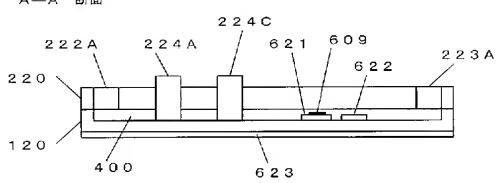
【図5】



【図4】



A—A'断面



[図6]

